

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**

(11)Publication number : 2000-095697

(43)Date of publication of application : 04.04.2000

(51)Int.Cl.

A61K 35/74

A23L 1/30

A61P 37/08

A61P 43/00

C12N 1/20

(21)Application number : 10-283315

(71)Applicant : ADVANCE CO LTD

(22)Date of filing : 18.09.1998

(72)Inventor : ITO MASAKI  
SAIJO NOBUSHI  
OKABE KEIICHIRO**(54) ANTIALLERGIC AGENT****(57)Abstract:**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a food having antiallergic activities, capable of improving and preventing allergic diseases such as pollinosis, allergic bronchial asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis.

**SOLUTION:** This food has utilities as a food represented by having antiallergic activities against type I and type IV allergy possessed by live bacteria or processed bacteria of *Enterococcus faecalis* (AD 101 strain) and *Lactobacillus reuteri* (AD 0002 strain), which are lactic bacteria always present in human intestine, and showing extremely high safety.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-95697

(P 2 0 0 0 - 9 5 6 9 7 A)

(43) 公開日 平成12年4月4日(2000.4.4)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード (参考)
A61K 35/74		A61K 35/74	A 4B018
A23L 1/30		A23L 1/30	Z 4B065
A61P 37/08		A61K 31/00	E 4C087
43/00		637	F
C12N 1/20		643	A
		C12N 1/20	

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-283315

(22) 出願日 平成10年9月18日(1998.9.18)

(71) 出願人 000126757

株式会社アドバンス

東京都中央区日本橋小舟町5番7号

(72) 発明者 伊藤 雅起

神奈川県横浜市港南区目限山1-66-402

(72) 発明者 西條 信史

東京都武蔵野市境南町3-15-11-103

(72) 発明者 岡部 敬一郎

東京都狛江市東野川3丁目14番地17号

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗アレルギー剤

(57) 【要約】

【目的】 花粉症、アレルギー性気管支喘息、アレルギー性鼻炎およびアトピー性皮膚炎等アレルギー疾患を改善、予防する抗アレルギー効果を有する食品

【構成】 ヒトの腸内に常在する乳酸菌である、エンテロコッカス・フェカリス (AD101株) およびラクトバシルス・ロイテリー (AD0002株) において、生菌もしくは加工された菌体が、I型およびIV型アレルギーに対する抗アレルギー効果を有し、極めて高い安全性を示すことで、食品としての有用性を示すものである。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒトの腸内細菌群より分離された乳酸菌として、エンテロコッカス・フェカリス（AD101株）、ラクトバシルス・ロイテリー（AD0002株）のうち1種類以上の菌体における、ヒスタミン遊離抑制効果を有するI型アレルギー抑制剤

【請求項2】 ヒトの腸内細菌群より分離された乳酸菌として、エンテロコッカス・フェカリス（AD101株）、ラクトバシルス・ロイテリー（AD0002株）のうち1種類以上の菌体における、IV型アレルギー抑制剤

【請求項3】 請求項1、2の乳酸菌を含有することを特徴とした、抗アレルギー効果を有する食品

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はヒトの腸内細菌群より分離された乳酸菌として、エンテロコッカス・フェカリス（AD101株）、ラクトバシルス・ロイテリー（AD0002株）のうち1種以上の菌体を含有することを特徴とした、抗アレルギー効果を有する食品に関するものである。抗アレルギー効果としては花粉症、アレルギー性気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎等のアレルギー性疾患があげられ、これらの症状を改善、予防するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 腸内細菌の存在意義は宿主における感染防御能の向上、免疫系の賦活、ビタミン等栄養素の合成、生理活性物質の産生等その有用性は多岐にわたることが明らかになりつつある。これらの内食品として乳酸菌やビフィズス菌がよく知られたものであり、生菌として経口的に摂取し、腸内に到達することによるその効果は、整腸作用やIgAの産生増強による生体防御能の向上は広く知られるところである。特にIgAの分泌増強は、食品に対するアレルギーを予防するものとして有効である。しかし食品アレルギーの発症は、腸管におけるIgAの分泌異常のみによるものではなく、またこれには遺伝的要因も関連するため、確実な効果を期待するには至らない。また、近年社会問題とまでされている花粉症、アトピー性疾患等に対する効果については具体的なものはなく、日常的に摂取され、なおかつ安全性の高い抗アレルギー効果を有する乳酸菌の開発が望まれている。

## 【0003】

【本発明が解決しようとする課題】 医薬品として用いられる抗ヒスタミン剤および抗アレルギー剤は、アレルギーの治療薬として花粉症、喘息、アトピー性疾患等アレルギー疾患の治療に用いられてきた。近年、これらの疾患の患者の数は急増し、なおかつ老若男女に至るまでその症状は慢性化している。そのため医薬品を長期にわたり服用する必要性が生じてきた。ところが医薬品の長期

服用は眠気等副作用の発現による服用者への苦痛、さらには肝臓への負担等生体に対する危険性が伴い、さらに服用停止の際生じるリバウンドも大きな問題となっている。

【0004】 これまで花粉症や喘息、鼻炎、皮膚炎等アトピー性疾患はI型アレルギーとして、即時型反応に分類されてきた。IV型アレルギーである即時型反応の主たる反応は、高親和性IgEレセプターを細胞膜上に発現する肥満細胞、好塩基球のレセプターにIgEが結合し抗原と抗原抗体反応が起こることで、脱顆粒現象によりヒスタミン貯蔵顆粒が細胞外に放出される。その結果毛細血管透過性促進、気管支平滑筋収縮、外分泌刺激により、種々のアレルギー反応が引き起こされ、30分以内に最大の反応を示す。そのためこのヒスタミンの遊離を抑制することで、花粉症、喘息、アトピー性疾患等のアレルギー疾患の改善が期待されてきた。これまでもヒスタミン遊離抑制効果を有する食品は、植物由来の抽出物等数多く知られている。

【0005】 しかし、これらのうち特にアトピー性皮膚炎においては、単純に体液性免疫であるI型に分類される即時型反応のみではなく、IV型である細胞性免疫としての遅延型過敏症反応の要因も含まれることが、最近の研究で知られるようになってきた。

【0006】 すなわち、特異抗原に感作されたリンパ球が、再度の抗原侵入に対し、種々のサイトカインを産生、放出することで、血管透過性の向進、マクロファージや好中球等炎症細胞の活性化や組織への浸潤を促進し、炎症反応が発症する。この反応は24時間から48時間後に最大となり、局所的に反応が起きる。この反応で代表的なものにはピアス、ネックレス、プレスレット等に用いられている金属や化粧品配合成分に対して起こる、接触性皮膚炎反応があげられる。

【0007】 つまり、即時型反応のI型さらに遅延型反応のIV型が繰り返し起こることで症状は悪化し、慢性的な発症となる。そのためこれらのI型およびIV型のアレルギー反応を同時に抑制し、日常的に摂取され、さらに食品素材としての応用範囲も広く、なおかつ安全性の高い機能性をもつ抗アレルギー効果を有する食品としての必要性は極めて高い。

## 【0008】

【問題点を解決するための手段】 本発明はこれらの問題を解決するため、I型およびIV型アレルギーに対する抑制効果を示し、なおかつ安全性の高い日常的に摂取可能な食品を探索するため鋭意研究を重ねた結果、ヒトの腸内細菌より分離された乳酸菌として、エンテロコッカス・フェカリス（AD101株）（FERM BP-297）、ラクトバシルス・ロイテリー（AD0002株）（*Lactobacillus fermentum*に相当する）（FERM BP-715）の菌体が、それぞれI型およびIV型に対する抗アレルギー効果と

高い安全性を示し、食品としての有用性を確認し発明するに至った。

【0009】これらはグラム陽性菌に分類され、ヒトの腸内、特に空腸から大腸にかけて存在する腸内常在細菌である。乳酸菌の食品としての機能性および応用は既に数多く知られているが、I型およびIV型に対する抗アレルギー効果としては新規なものである。また食品としては生菌に留まらず加工処理が可能であり、広い応用範囲が得られ、なおかつ賞味期間を大幅に延長するものである。

【0010】すなわち本発明はエンテロコッカス・フェカリス (AD101株)、ラクトバシルス・ロイテリ (AD0002株) のこれらのうち1種類以上の菌体を、食品に含有もしくは製剤化 (錠剤、カプセル剤、粉剤、顆粒剤、液剤等) し服用することを特徴とする、抗アレルギー剤に関するものである。

【0011】これらの有効成分は菌を常法により培養し菌体を得た後、目的に応じて生菌の状態もしくは加工処理して用いられる。加工処理として代表的には加熱処理があげられ、温度は60～180℃で加熱時間は1秒～1時間の範囲が望ましく、処理後はスプレー乾燥、凍結乾燥等常法により乾燥物を得る。

【0012】これらにして得られた菌体は食品として、1種類以上が、その目的に応じて適切な食品原料と、公知の手法により配合され、ヨーグルト、チーズ、バター、粉乳等の乳製品、ゼリー、チョコレート、ビスケット、飴、キャンディー等の菓子類、ソーセージ、ハム、サラミ等畜産加工品、マヨネーズ、ケチャップ、味噌、トウガラシ等の調味料、また清涼飲料水、乳酸菌飲料等

に加工される。また錠剤、カプセル剤、粉剤、顆粒剤等公知の手法により製剤化され製造することができる。

【0013】(菌学的性質) 本発明の微生物の一般的な菌学的性質は、同じ分類に属する微生物と同じである。一般的な菌学的性質、培養方法、及びその他の性質は以下の文献に記載されているものに相当する。

- 1、Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, 490-676 (1974)
- 2、Int. J. Syst. Bact. 16. 114 (1966)
- 10 3、Poupard, J. A., Husain, I., and Norris, R. F.; Bacteriol. Rev. Vol. 37, p136-165 (1973)
- 4、光岡知足、日本細菌誌 Vol. 24, p261-280 (1969)
- 5、農芸化学実験書 第2巻 (1964) 京都大学農芸部農芸化学教室編
- 6、Microbiol. Immunol. Vol. 25 (3), p257-269 (1981)
- 7、J. Clin. Pathol, Vol. 33, p53-57 (1980)
- 8、J. General Microbiol., Vol. 128, p713-720 (1982)
- 9、Applied Microbiol., Vol. 23 (6), p1131-1139 (1972)
- 10、光岡知足、臨床と細菌 Vol. 2 (3), p261-280 (1969)
- 11、R. H. Deibel, D. E. Lake, C. F. Nieven, Jr; Bacteriol. Vol. 86, p1275-1282 (1963)

【0014】本発明にて掲げられる各種菌株について、その主な菌学的性状を要約して表示すれば以下の表4、表5の通りである。

【表4】

寄託番号	FERM BP-297
菌株	<i>L. Paccalis</i> AD9001株
性状	球状
細胞形状	+
グラム染色性	+
溶血性	α
10℃での増殖	+
45℃での増殖	+
50℃での増殖	—
60℃30分での耐熱性	+
pH9.6培地での増殖	+
メチレンブルー還元性	+
ゼラチンの液化	—
NaCl添加(6.5%)培地での増殖	+
胆汁添加(40%)培地での増殖	+
アンモニア生産	+
馬尿酸水解性	±
テルライト添加培地での増殖	+
TTC*添加培地での増殖	+
炭素源からの酸生産性	
グルコース	+
エスクリン	+
イヌリン	—
ラクトース	+
グリセロール	+
アラビノース	—
メレジトース	+
ソルビトール	+
血清(群抗原)	D

(\*2,3,5-トリフェニルテトラゾリウムクロリド)

【表5】

供試菌株	形態 生化学的 性状	遠隔培地 1.8S上の コロニー 形態	グ ラ ム 形 態	カガ 15 45 リ ト	糖 発 酵 性										菌 属 類
					ア キ リ	グ マ ガ	サ マ セ ラ ト	ノ ラ ノ	マ ン ノ	エ サ ア	ア ラ ビ ノ ス	メ レ ジ ト ス	ソ ル ビ ト ール	セ ラ チ ン	
AD0002 FERM BP-715	隆起 S型 白色 光沢有	+	短桿菌 連鎖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Lactobacillus fermentum

+ : 陽性    - : 陰性

尚、表5は、*Lactobacillus fermentum*の菌学的性質が記載されているが、厳密には、ラクトバシルス・ロイテリーに相当するものである。

【0015】人における1日当たりの摂取量は、乾燥重 50

量として50mgから1gの範囲が望ましい。次にエンテロコッカス・フェカリス(AD101株)、ラクトバシルス・ロイテリー(AD0002株)の実施例をあげ詳細に説明するが、本発明はこれらにより何等制限されるものではない。

## 【0016】実施例1：菌体の培養

各菌体を次の組成の培養液中で培養した。(培養液1リットル中の組成)

グルコース	20 g
酵母抽出物	5 g
ペプトン	13 g
リン酸一カリウム	3 g
リン酸二カリウム	3 g
クエン酸三アンモニウム	2 g
システインー塩酸塩	0.2 g
ツイーン80	1 g
硫酸マグネシウム・7水和物	0.6 g
硫酸鉄・7水和物	0.03 g
硫酸マンガン	0.1 g

各成分を蒸留水に溶解後、3N水酸化ナトリウム溶液でpH7に調整した培養液5リットルを37℃で24時間培養した。培養後遠心分離で各菌体を回収し、蒸留水で3回洗浄後115℃15分間加熱処理、スプレー乾燥しそれぞれ乾燥物でエンテロコッカス・フェカリス12g、ラクトバシルス・ロイテリー8gを得た。

## 【0017】実施例2。ラット腹腔内肥満細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験

Sprague-Dawley系ラット雄9週令を頸動脈切断放血致死後、ハンクス液を腹腔内に注入した。数分間マッサージの後腹腔内よりハンクス液を回収し、40%および30%フィコール溶液による密度勾配遠心法により肥満細胞を分離した。1x10<sup>5</sup>/mlに調製した肥満細胞浮遊液0.5mlにコンパウンド48/80を1μg/mlの濃度で肥満細胞からヒスタミン遊離させ、ヒスタミン量を測定した。なお被検物質は、製造例13で得られた各加熱死菌体乾燥粉末をそれぞれ水に懸濁、攪拌し、遠

心分離した上清を凍結乾燥して得られた粉末をコンパウンド48/80添加前に肥満細胞浮遊液中に加えた。

【0018】結果を表1に示す。

【表1】

被検物質	試料濃度 (μg/ml)	遊離抑制率 (%)
エンテロコッカス フェカリス (AD1001株)	200	88.6
	100	76.4
	50	60.1
	25	50.2
ラクトバシルス ロイテリー (AD0002株)	200	97.6
	100	91.5
	50	73.1
	25	56.7
紫蘇抽出物乾燥粉末	200	54.8
	100	42.1
	50	27.1
	25	15.8

## 【0019】実施例3。各菌体の経口投与によるラットPCA反応試験

Sprague-Dawley系ラット雄7週令、1群4匹について、粉末飼料に実施例13で得られた各加熱死菌体乾燥粉末および紫蘇抽出物乾燥粉末を、3%混餌で2週間自由摂取後、除毛した背部にマウス抗卵白アルブミン血清を100μl皮下投与し、48時間後に卵白アルブミン1mg/ml、エバンスブルー5mg/mlを溶解させた生理食塩溶液を1ml尾静脈投与し、30分後放血致死させた。その後色素漏出部位を切りとり皮膚を溶解し、漏出した色素量を測定した。

【0020】結果を表2に示す。

【表2】

被検物質	色素漏出量(μg) (平均±標準偏差)	t検定
対照	34.79±12.56	—
エンテロコッカス フェカリス (AD1001株)	17.98±4.41	P<0.05
ラクトバシルス ロイテリー (AD0002株)	17.34±3.62	P<0.05
紫蘇抽出物乾燥粉末	13.65±12.21	P<0.05

## 【0021】実施例4。各菌体の経口投与によるマウス接触性皮炎試験

ddy系マウス雄5週令、1群6匹について、粉末試料に製造例13にて得られた加熱死菌体乾燥粉末および紫蘇

抽出物乾燥粉末を3%混餌で2週間自由摂取後、腹部に7%塩化ピクリルアセトン溶液0.1mlを塗布し感作させた。6日後耳介に1%塩化ピクリルオリブ油溶液20μlを右耳介に塗布、左耳介にはオリブ油を20

μ l 塗布した。さらに6日後に同様に処理し、24時間後の左右の耳介の厚みを測定し膨張率を求めた。

【0022】結果を表3に示す。

【表3】

被検物質	膨張率 (%)	t 検定
対照	44.39±10.50	—
エンテロコッカス フェカリス (AD1001株)	30.55± 8.65	P<0.05
ラクトバシルス ロイテリー (AD0002株)	31.49± 5.76	P<0.05
菜蘇抽出物	42.35±10.87	N.D.

【0023】 以上の実施例より、エンテロコッカス・フェカリス (AD101株) およびラクトバシルス・ロイテリー (AD0002株) がヒスタミン遊離抑制効果を示し、PCA反応においても抑制効果を示したことから、抗I型アレルギー効果が証明された。さらに、遅延型過敏症反応である接触性皮膚炎反応においても炎症の抑制が示され、抗IV型アレルギー効果が証明された。

すなわちこれらの効果を同時に有する食品を日常的に摂取することで、生体内の肥満細胞からのヒスタミン遊離が抑制され、花粉症、アトピー性気管支喘息、アトピー性鼻炎等の改善、予防のみならず、I型、IV型のアレルギー反応の繰り返しによるアトピー性皮膚炎の悪化の改善、予防となる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>

識別記号

F I

ターマコード (参考)

E

Fターム(参考) 4B018 LE03 MD86 ME07 MF04 MF06  
MF13

4B065 AA01X AA30X BC02 BC03

BD08 BD10 CA42 CA44

4C087 AA01 AA02 BC56 BC62 CA09

MA01 MA02 MA52 NA14 ZA59

ZB13 ZC13